オクタデシル硫酸ナトリウムのラットによる代謝

(昭和 53 年 9 月 12 日受理)

足立 透* 田中 彰* 山羽 力*

Metabolism of Octadecyl Sulfate in Rats

Tohru ADACHI, Akira TANAKA and Tsutomu YAMAHA

(*National Institute of Hygienic Sciences: 18-1, Kamiyoga 1-chome, Setagaya-ku, Tokyo)

Excretion, distribution and metabolism of sodium octadecyl sulfate, one of higher alcohol sulfate detergents, were investigated after oral administration of the ^{35}S -labeled compound to rats.

It was found that about 93% of the dose was excreted in the urine and about 2% in the feces by 24 hr. The radioactivity distributed in organs and tissues was relatively low and specific organ-affinity was not observed.

Butyric acid 4-sulfate- ^{35}S was identified as the major urinary metabolite by means of Dowex-1 column chromatography, TLC, GLC, GC-MS and inverse isotope dilution method. A small amount of inorganic sulfate- ^{35}S was also detected in the urine.

These metabolic patterns of octadecyl sulfate were very similar to those of other higher alcohol sulfate detergents, such as decyl, dodecyl and hexadecyl sulfates.

(Received September 12, 1978)

合成洗剤による水質汚濁の問題に関連して、界面活性剤の生分解性について数多くの研究が行われ、現在では、生分解されにくい分岐型アルキルベンゼンスルホン酸塩 (ABS) に代わって直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸塩 (LAS) を中心に、オレフィン系や高級アルコール系などの易生分解性洗剤に転換されている。

一方、これら界面活性剤の生体への影響について、一般毒性、発ガン性、催奇形性、皮膚障害など多くの研究が報告されているが、代謝に関する研究は比較的少ない。

高級アルコール硫酸エステル塩は、食品・野菜などの台所用洗剤、羊毛・絹などの洗濯用洗剤およびシャンプーとして古くから使われているが、代謝についての研究は比較的新しく、1969年に Denner ら¹⁾によりラットを用いてドデシル硫酸塩の代謝が詳細に検討されている。さらに最近、Merits²⁾、Bruke ら³⁾によって炭素数の異なる幾つかのものについて研究がなされている。

著者らは合成洗剤の安全性に関する研究の一環として、今日広く日常生活に使われ、比較的洗浄力が強いと

されているオクタデシル硫酸について代謝研究を行った。すなわち、 ^{35}S で標識したオクタデシル硫酸ナトリウムをラットに経口投与し、吸収、排せつ、体内分布および尿中の代謝物の同定を行い、既に報告されている一連の高級アルコール硫酸エステル塩の代謝実験の結果と比較検討した。

実験材料および方法

1. 試薬

^{35}S -オクタデシル硫酸ナトリウム ($^{35}\text{S}\text{-C}_{18}\text{AS}$) は The Radiochemical Centre, Amersham 製、比放射能 22.8 mCi/mmol のものを用いた。使用に際し非放射性オクタデシル硫酸ナトリウム (C_{18}AS) (純度98.6%、花王石鹼(株)製) で適宜希釈した。

Soluene-100, Insta-Gel シンチレーターはバックカード社製を用い、その他の試薬は市販の特級品を用いた。

Dowex-1×4 (50~100メッシュ、Cl 型、ダウケミカル社製) は常法に従って活性化した後、分離用カラム管 (1.2×20 cm) に充てんしたものを用いた。

2. 実験動物

ウィスター系雄ラット体重 150 g 前後のものを温度

* 国立衛生試験所: 東京都世田谷区上用賀1-18-1

25±1°, 湿度 55±5% の飼育室でオリエンタル固型飼料 (NMF) を用いて飼育し, 体重 200~250 g になったものを用いた。

吸収, 排泄の実験には 1 群 8 匹を, 体内分布の実験には 1 群 3 匹を使用した。

3. 投与量および投与方法

³⁵S-C₁₈AS を 0.4% の濃度になるように温水中に溶かし, 1 夜絶食させたラットにその 1 ml (約 5 μCi) を胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。なお, 投与 3 時間後には飼料と水を自由に与えた。

また胆管瘻ラットは, ラットをエーテル麻酔下に開腹, ポリエチレンカニューレを総胆管に挿入して作成し, 術後約 1 時間目に上記の ³⁵S-C₁₈AS 水溶液 1 ml を経口投与した。

4. 試料の採取

0.4% ³⁵S-C₁₈AS 水溶液を投与したラットを個別にステンレス製代謝ケージに入れ, 24 時間ごとに 5 日間尿および糞を採取し, 尿は一時的冷蔵庫内 5° で保存した。また, ラットを固定台に腹位に固定して, 胆管カニューレ中に流出する胆汁は 24 時間ごとに 3 日間採取した。

臓器内分布は投与後 6, 12, 24, 48 および 120 時間に心臓穿刺によって採血屠殺後, 直ちに脳, 心臓, 肺, 肝臓, 脾臓, 腎臓, 胃, 睾丸, 腸 (内容物を含む), 筋肉, 脂肪組織を摘出し, 各々を秤量した後, 各臓器の一部および 0.1 g を, 肝臓, 腎臓については 1 臓器当たり 2 検体を秤量し, 液体シンチレーションカウンター用バイアルに秤取した。

5. 試料の調製

尿および胆汁は水を加えて 2~3 倍量に希釈して一定量とした。糞は約 30~50 倍量の 80% エタノールを加えて浸し, 一夜放置後ポリトロンにより磨砕し, 定容とした後 3000 rpm で 10 分間遠心分離した。腸は内容物とともに約 10 倍量の 0.5 N 水酸化ナトリウム液を加えて加熱溶解後, 水で定容とした。それぞれの試料の上澄み液の一部 0.1~0.3 ml をバイアルに採り, Insta-Gel シンチレーター 15 ml またはジオキサン系シンチレーター (DPO 7 g: POPOP 0.3 g: ナフタレン 100 g/l ジオキサン) 15 ml を加えた。一方, 各臓器は Soluene-100 1 ml を加えて, 約 50° の恒温槽内で加温溶解させ, また血液, 脾臓などの着色の激しいものについては, 30% 過酸化水素 0.1~0.5 ml を加えて酸化脱色した後に, それぞれにトルエン系シンチレーター (DPO 5 g: POPOP 0.3 g/l トルエン) 15 ml を加えた。

6. 放射能の測定

それぞれの試料を液体シンチレーションカウンター

(日本無線・医理学 (研) 製, Aloka LSC-651) にて ¹⁴C チャンネルの条件で測定し, その都度減衰補正を行って dpm を求めた。

7. 尿中代謝産物の検索

1) 薄層クロマトグラフィー (TLC)

シリカゲル・スポットフィルム (東京化成 (株) 製) および分取用シリカゲル・プレート (ワコーゲル B-O (和光純薬 (株) 製), 厚さ 1 mm, 105° で 1 時間活性化したもの) を使用し, 展開溶媒は A: *n*-ブタノール-酢酸-水 (4:1:1, v/v), B: *n*-ブタノール-酢酸-水 (3:1:1, v/v), C: メチルエチルケトン-エタノール-水-ベンゼン (1:2:1:1, v/v) の 3 種を適宜使用した。また TLC 上の放射性物質は薄層ラジオクロマトスキャナー (日本無線・医理学 (研) 製, Aloka TRM-1B) で検索した。一方, 合成標品のスポットは 0.1% フルオレセイン・エタノール溶液を噴霧した後, 紫外線灯 (東芝電気 (株) 製, 短波長 2536 Å) により検出した。

2) イオン交換クロマトグラフィー

0.4% ³⁵S-C₁₈AS 水溶液 (5 μCi/ml) を投与したラット 5 匹分の 24 時間尿をまとめ, 3000 rpm, 10 分間の遠心によって得られた上澄み液約 50 ml を Dowex-1×4 (Cl 型) 樹脂をつめたカラム (1.2×20 cm) に吸着させ, よく水洗した後, 0~2M 塩化カリウム系で直線的濃度勾配による溶出を行った。すなわち, 展開溶媒は最初水 60 ml と 1M 塩化カリウム液 60 ml を組合せ, 引き続いて 1M 塩化カリウム液 60 ml と 2M 塩化カリウム液 60 ml の組合せで溶出を行った。流速は 20 ml/hr とし, 1 ml ずつを試験管に採取し, それぞれその一部をとり放射能測定を行った。ついで, 0.3~0.6M 塩化カリウム濃度の間で溶出される微量代謝物に相当する溶出画分を I, 0.8~1.1M 塩化カリウム濃度範囲で溶出される主代謝物に相当する溶出画分を II とし, それぞれを別々にまとめて 40° で減圧下に濃縮乾固した。

さらに溶出画分 II については精製を行うため, 残留物をメタノールで抽出し, その一部を分取用薄層板上に帯状にスポットし, 展開溶媒 A で展開し, 放射性画分のシリカゲルを注意してかき取り, メタノールで抽出して GLC, GC-MS および逆同位体希釈分析に用いるための試料とした (以後, 分析用試料という)。

なお, 各試験管中の塩化カリウム濃度は, その一定量を水で適当に希釈して 0.02 N 硝酸銀液で定量した。

3) 逆同位体希釈分析法

分析用試料のメタノール溶液の一部に担体として非放射性酪酸 4-硫酸エステルカリウムの合成標品約 80 mg を加え, 50° に加温して完全に溶解させた後, 4° に冷や

したエタノールを濁りがみられるまで加えて0°で放置し、析出した結晶は遠心分離して集め、再結晶をくり返し、その都度得られた結晶3~5mgをバイアルに精秤して、少量の水で溶解させた後、Insta-Gelシンチレーター15mlを加えて放射能を測定し、比放射能を求めた。

4) ガスクロマトグラフィー (GLC)

(株)島津製作所製 GC-5A型装置を用い、クロモソルブWを担体としたポリエチレングリコール20M(10%)を充てんしたガラスカラム(3mm×200cm)で分析した。カラム温度は150°, 試料注入口温度は240°とし、キャリアーガスは窒素ガスを60ml/minの流速で用い、検出はFIDによった。

5) スペクトルの測定

a) ガスクロマトグラフ-質量スペクトル (GC-MS)

(株)島津製作所製 LKB GC-MS 9000型を使用し、充てん剤として5%ポリエチレングリコール20MクロモソルブW(60~80メッシュ)を1mm×1mのガラスカラムに充てんし、カラム温度は110°, 試料注入口温度250°, イオン化電圧20/70eVとし、キャリアーガスはHeを30ml/minの流速で流した。

b) 赤外吸収スペクトル (IR)

日本分光工業(株)製 IR-S型を使用し、合成品の確認をKBr法で測定した。

8. 標品の合成

代謝産物と想定されるグリコール酸2-硫酸エステル(GA 2-S), プロピオン酸3-硫酸エステル(PA 3-S), 酪酸4-硫酸エステル(BA 4-S), 吉草酸5-硫酸エステル(VA 5-S)およびカブロン酸6-硫酸エステルのカリウム塩はMarvelらの方法⁴⁾に準じて対応するラクトン(グリコール酸は除く)からω-ヒドロキシ酸塩を合成した後、

Table 1. Excretion of ³⁵S in the Urine and Feces after the Oral Administration of C₁₈AS Labeled with ³⁵S

Time (hr)	% of dose		
	Urine	Feces	Total
0~24	93.30±2.40	1.87±1.31	95.17±2.65
24~48	1.52±1.89	0.17±0.06	1.69±1.91
48~72	0.26±0.12	0.13±0.22	0.39±0.29
72~96	0.12±0.08	0.04±0.04	0.17±0.09
96~120	0.08±0.04	0.02±0.01	0.10±0.04
Total	95.28±2.00	2.23±1.36	97.51±2.16

Mean values (8 rats)±S.D.

DennerらのBA 4-Sの合成方法⁴⁾を参考にして合成した。

これら6種類の合成品はいずれもTLCで単一のスポットを与えること、また、IRで、脂肪族直鎖硫酸エステルの特性⁵⁾を有し、いずれも3360cm⁻¹付近のOH基の吸収が消失し、新たに1215cm⁻¹, 1250cm⁻¹の付近にν_{as}SO₃の特長を示す2本の強い吸収や、780cm⁻¹~840cm⁻¹の範囲でνS-O-Cの吸収がみられることからその構造を確認し、以後合成標品として使用した。

実験結果

尿および糞中への排せつ

³⁵S-C₁₈ASを経口投与し、尿、糞中への³⁵Sの排せつ率を経時的に求めた結果をTable 1に示した。

尿中への排せつは比較的速く、投与後24時間以内に投与した³⁵Sの約93%に達し、その後は急激に減少した。一方、糞中への排せつは、120時間以内で約2.2%と極めて少なく、尿、糞合わせて5日間で、投与した放射能の約98%が排せつされた。このことは、本化合物が速やかに吸収・排せつされることを示している。

また、胆管瘻ラットでは、投与後72時間以内の胆汁中には投与量のわずか0.6%程度しか排せつされなかった。このことは、本化合物では腸肝循環の関与がほとんどみられないことを示唆している。

なお、尿中の放射能をジオキサンシンチレーターで測定する場合に、³⁵Sの放射能減衰以外にバイアル内面への代謝物の吸着によるため⁶⁾、経時的に若干の測定値の低下が見られたので、代謝物を含む試料の放射能測定にはInsta-Gelシンチレーターを用いた。

生体内分布

臓器中の放射能の分布の経時変化をTable 2に示した。

投与6時間後の肝臓への放射能の取り込みは投与量の約1.8%で、臓器中では最高であるが、各臓器への放射能分布は極めて少なく、その総合計量でも24時間後で約0.5%、120時間後では0.1%程度となり、投与24時間後での肝臓と腎臓にまだ僅かの放射能分布がみられる以外は特に親和性の強い臓器は認められなかった。なお、投与後6時間目の胃腸管内には投与した³⁵Sの約5%しか残存していなかったことから、C₁₈ASの吸収はほぼ完全に行われたものと考えられる。

尿中代謝物の同定

ラット尿中の代謝物はTLC、イオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィーと逆同位体希釈分析法により直接証明するとともに、間接的には尿中代謝物を加水分解した後、生成したラクトンのGLCおよびGC-MSに

Table 2. Distribution of ^{35}S in Tissues and Organs after Oral Administration of C_{18}AS Labeled with ^{35}S

Organs	Time (hr)	Percent of dose				
		6	12	24	48	120
Brain		0.012 $\pm$ 0.004	0.011 $\pm$ 0.002	0.008 $\pm$ 0.000	0.003 $\pm$ 0.001	0.002 $\pm$ 0.001
Heart		0.014 $\pm$ 0.002	0.004 $\pm$ 0.001	0.001 $\pm$ 0.000	0.001 $\pm$ 0.000	0.001 $\pm$ 0.000
Lung		0.103 $\pm$ 0.020	0.040 $\pm$ 0.007	0.010 $\pm$ 0.008	0.003 $\pm$ 0.002	0.001 $\pm$ 0.000
Liver		1.757 $\pm$ 0.434	0.534 $\pm$ 0.196	0.064 $\pm$ 0.004	0.022 $\pm$ 0.003	0.007 $\pm$ 0.004
Spleen		0.018 $\pm$ 0.003	0.005 $\pm$ 0.002	0.001 $\pm$ 0.000	0.001 $\pm$ 0.000	0.002 $\pm$ 0.000
Kidney		0.596 $\pm$ 0.164	0.199 $\pm$ 0.064	0.032 $\pm$ 0.028	0.008 $\pm$ 0.002	0.003 $\pm$ 0.002
Stomach		0.149 $\pm$ 0.110	0.177 $\pm$ 0.121	0.006 $\pm$ 0.005	0.003 $\pm$ 0.001	0.004 $\pm$ 0.002
Testis		0.021 $\pm$ 0.003	0.013 $\pm$ 0.002	0.003 $\pm$ 0.001	0.002 $\pm$ 0.001	0.001 $\pm$ 0.000
Muscle ^{a)}		0.909 $\pm$ 0.207	0.448 $\pm$ 0.118	0.165 $\pm$ 0.082	0.053 $\pm$ 0.009	0.064 $\pm$ 0.053
Adipose ^{b)}		0.262 $\pm$ 0.128	0.089 $\pm$ 0.045	0.037 $\pm$ 0.013	0.039 $\pm$ 0.014	0.013 $\pm$ 0.007
Blood ^{c)}		0.309 $\pm$ 0.076	0.079 $\pm$ 0.019	0.026 $\pm$ 0.017	0.029 $\pm$ 0.018	0.009 $\pm$ 0.002
Intestine		4.848 $\pm$ 0.848	2.046 $\pm$ 0.696	0.125 $\pm$ 0.031	0.085 $\pm$ 0.009	0.012 $\pm$ 0.010
Total		9.396 $\pm$ 0.749	3.677 $\pm$ 0.723	0.477 $\pm$ 0.117	0.246 $\pm$ 0.026	0.119 $\pm$ 0.046

Assumed as a) 40%, b) 14%, c) 7.69% of body weight

Mean values (3 rats) $\pm$ S.D. **Fig. 1.** Thin layer radiochromatogram of urinary metabolitesDeveloping solvent: $n\text{-BuOH-AcOH-H}_2\text{O}$ (4:1:1)

よる同定を併せて行い確認した。これは一般に短い鎖の ω -オキソ酸の硫酸エステルが加水分解を受けて閉環しやすい性質を利用したものである。

1) TLC

$^{35}\text{S-C}_{18}\text{AS}$ を経口投与したラット 5 匹分の 24 時間尿を集め、その一部を実験方法 1) に従って展開溶媒 A で TLC

Table 3. R_f Values of Urinary Metabolites- ^{35}S and Authentic Compounds

Compound	Solvent	A	B	C
K_2SO_4		0.02	0.03	0.04
Glycolic acid 2-sulfate		0.09	0.11	0.31
Propionic acid 3-sulfate		0.20	—	0.36
Butyric acid 4-sulfate		0.26	0.28	0.41
Valeric acid 5-sulfate		0.32	—	0.47
Caproic acid 6-sulfate		0.40	0.41	0.52
Urine radio peak I		0.03	0.03	0.04
II		0.27	0.29	0.41

Developing solvents: A= $n\text{-BuOH-AcOH-H}_2\text{O}$ (4:1:1); B= $n\text{-BuOH-AcOH-H}_2\text{O}$ (3:1:1); C= $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5\text{-EtOH-H}_2\text{O-benzene}$ (1:2:1:1)

を行い、Fig. 1 に示すようなラジオクロマトグラムを得た。また、尿中の放射能ピークと対照の標品を同時に展開した R_f 値を Table 3 に示した。

Fig. 1 から分かるように、 R_f 0.02 と 0.27 のところに放射能ピークが検出され、 R_f の小さい方からピーク I, II とした。なお、尿中には $^{35}\text{S-C}_{18}\text{AS}$ の未変化体 (R_f 0.65) は認められなかった。Table 3 の標品との比較の結果、いずれの溶媒系を用いた TLC によっても尿中の二つの放射能ピークがそれぞれ硫酸カリウムと BA 4-S のスポットと全く一致したことから、原点付近のピーク

Fig. 2. Column chromatogram of urinary metabolites (^{35}S)

Column: Dowex-1 $\times$ 4 (50~100 mesh, Cl form) 1.2 $\times$ 20 cm; flow rate, 1 ml/3 min; eluting agent, 0~2M KCl-linear gradient

I は無機硫酸, ピーク II は BA 4-S と考えられる。

次いで, これら代謝物を定量するために, 約 0.1 ml の尿をシリカゲルプレートに帯状に塗布し, 展開溶媒 A で展開した後, TLC 上のピーク I, II に相当する部分のシリカゲルを別々にかき取り, 0.1N 水酸化ナトリウム液 5 ml で抽出したものについて, それぞれ放射能を測定した結果, 尿中総放射能の約 82% が BA 4-S (ピーク II), 残りの 18% 程度が無機硫酸 (ピーク I) であった。

2) Dowex-1 カラムクロマトグラフィー

実験方法 2) に従って直線的濃度勾配による尿中代謝物の溶出を行い Fig. 2 に示すようなカラムクロマトグラムが得られた。なお, 水洗画分には放射能は全く認められず, 代謝物は樹脂に完全に吸着しているものと考えられる。

二つの溶出画分の約 16% (I) と 84% (II) の放射能分布は上述の TLC による結果とよく一致している。

溶出画分 II を展開溶媒 A および B で行った TLC では, 放射能ピークが標品の BA 4-S の R_f 値と全く一致したことから BA 4-S であることを確かめた。また, 溶出画分 I は一般に行われている硫酸塩の定性反応がすべて陽性であることから無機硫酸と同定した。

3) 逆同位体希釈分析

分析用試料のメタノール溶液の一部に BA 4-S の合成

Table 4. Reversed Isotope Dilution Analysis of Butyric Acid 4- ^{35}S -Sulfate

Recrystallization No.	Specific activity (dpm/mg)
1	5229
2	5190
3	5197

Fig. 3. Gas chromatogram of hydrolysed metabolite and authentic lactones

Column, 10% PEG 20M/Chromosorb W (60~80 mesh); temp., 150°C; N_2 flow rate, 60 ml/min; ----, hydrolysed metabolite; —, authentic lactones; C_3 , 3-propiolactone; C_4 , 4-butyrolactone; C_5 , 5-valerolactone; C_6 , 6-caprolactone

標品を加えて逆同位体希釈分析を行った結果を Table 4 に示した。

3 回の再結晶によって得られた結晶の比放射能はほぼ一定の値が得られ, その低下はほとんど認められなかった。

4) GLC, GC-MS

分析用試料の加水分解条件を予め設定した後, 分析用試料約 2 ml を 1N 塩酸 35 ml と約 30 時間 100° で加熱還流し, 生じたラクトンベンゼン 30 ml で 4 回抽出後, 抽出液を無水芒硝で 1 夜乾燥し, 減圧下 40° で約 1~2 ml まで濃縮し, 実験方法 4) により GLC を行い Fig. 3 に示すようなクロマトグラムを得た。

保持時間 4.7 分の大きなピークは, 標品の 4-ブチロラクトンのそれと全く一致した。保持時間 2.3 分の小さな

ピークは対照尿として加水分解しない尿からも得られるので、内因性物質に由来するピークと思われる。なお、比較のために用いた標品の保持時間はそれぞれ3-プロピオラクトン：2分、4-ブチロラクトン：4.7分、5-バレロラクトン：4.2分および6-カプロラクトン：11.5分であった。また、加水分解した試料に標品の4-ブチロラクトンを一定量添加すると保持時間4.7分のピークは単一のまま波高が増大すること、GC-MSの m/e 84の分子イオンピークが標品のそれと完全に一致すること、さらに加水分解後の水溶液中に無機硫酸の存在が確認されていることなどから考えて、主代謝物はBA 4-Sであることを証明した。

考 察

現在、家庭用合成洗剤の成分の一つとして広く用いられている高級アルコール硫酸エステル塩の代謝については、Denner ら¹⁾ (1969)のラットによるドデシル硫酸塩 ($C_{12}AS$)の研究以後あまり顧みられなかったが、最近 Merits, Bruke らによりデシル硫酸塩³⁾ ($C_{10}AS$)、ウンデシル硫酸塩³⁾ ($C_{11}AS$)、ヘキサデシル硫酸塩²⁾ ($C_{16}AS$)、オクタデシル硫酸塩³⁾ ($C_{18}AS$)について研究がなされ、これらに共通な代謝経路がほぼ明らかにされてきた。

本報において我々は、アルキル鎖の長い $C_{18}AS$ について ^{35}S 標識化合物を用い、ラットによる吸収、排せつ、分布、代謝物について詳細に検討し、従来の一連のデータとの比較を行った。

$^{35}S-C_{18}AS$ をラットに経口投与すると、その放射能の大部分は尿中に速やかに排せつされ、糞中排せつ率は約2%にすぎなかった (Table 1)。この結果は Denner ら¹⁾ の $C_{12}AS$ 、Merits²⁾ の $C_{16}AS$ 、Bruke ら³⁾ の $C_{10}AS$ 、 $C_{18}AS$ のラットの尿、糞中排せつ率の結果と良く類似しており、ラットの系統、投与化合物、投与量および投与方法の違いによる差異はほとんど認められない。一方、Bruke ら³⁾ は $C_{18}AS$ の尿中排せつ速度には性差がみられ、6時間で雌 (39%)の方が雄 (17%)よりかなり速く排せつすることを観察している。

Merits²⁾ は $C_{16}AS$ を経口投与したイヌではラットと異なり、かなり吸収が悪く、投与後72時間で尿中に排せつされる放射能は約50%、糞中は約41%と報告し、またヒトでも吸収にかなりの個人差がみられることから、吸収には動物種差があることを認めている。

一般に消化管のpHで解離する有機化合物は吸収が悪いことが知られているが、著者らの実験結果は、本化合物がラットの消化管から速やかに吸収されることを示唆しており、また Bruke ら³⁾ もこれら化合物の吸収が良いことを指摘している事実は、硫酸エステルの特異性を

示すものとして興味深い。

一方、臓器分布の結果 (Table 2) は、各臓器に蓄積する放射能が極めて少なく、特に親和性の強い臓器は認められない。Denner ら¹⁾ および Bruke ら³⁾ も $^{35}S-C_{12}AS$ および $^{35}S-C_{10}AS$ 、 $^{35}S-C_{16}AS$ を投与後短時間での全身オートラジオグラムから、肝、腎のみに放射能が高濃度に分布していることを観察している。

以上のように各臓器からの放射能の消失が比較的速いことは、尿および糞中への放射能の排せつ速度が速い事実ともよく一致している。

尿中代謝物については、TLC およびイオン交換クロマトグラフィーの結果から、主代謝物はBA 4-Sで、僅かの無機硫酸が検出された。それらの尿中の総放射能に対する割合は、それぞれ82%、18%であった。このような尿中の無機硫酸の生成率は Denner ら¹⁾ ($C_{12}AS$: 17%)、Merits²⁾ ($C_{16}AS$: 20%) および Bruke ら³⁾ ($C_{18}AS$: 13%) のラットにおける結果と傾向がよく似ており、またそれぞれの主代謝物がBA 4-Sであることも一致している。

Denner ら¹⁾ は $C_{12}AS$ の最終代謝物がBA 4-Sであることを、 ^{35}S で標識したBA 4-Sを腹腔内投与したラットの尿中から多量の未変化体を検出したことによって確認している。一方、尿中に出現してくる無機硫酸の起源に関して Denner らは無機硫酸の生成量が $C_{12}AS$ を投与した場合とほとんど変わらなかったこと、また $^{35}S-C_{12}AS$ の肝灌流の実験から、いったんBA 4-Sに代謝された後、その一部が加水分解を受けて生成されたものであることを推測している。このことは、Ottery ら⁷⁾ の *in vitro* の実験からも、BA 4-SがpH 5以上の系で非酵素的に加水分解されて無機硫酸と4-ブチロラクトンを等モルずつ生成することで証明されており、生理的pHで無機硫酸への加水分解が起こることが示唆される。

Merits²⁾ は $C_{16}AS$ を経口投与したヒト、イヌの尿中からBA 4-Sの他にラット尿では認められなかったGA 2-Sをそれぞれ5%、24%程度検出しているが、 $C_{18}AS$ をラットに経口投与した本研究では、著者らが想定した中間代謝物 (Table 3) のうち、BA 4-S以外は尿中から検出することはできなかった。

Denner ら¹⁾、Merits²⁾ および Bruke ら³⁾ が既に考察しているように、長鎖の高級アルコール硫酸エステル塩 ($C_{10}AS \sim C_{18}AS$) をラットに経口投与すると、その大部分は胃腸管から速やかに吸収され、肝臓で末端のメチル基が ω 酸化を受けてカルボン酸となり、次いで β 酸化が繰り返されて分解され、炭素数の偶数個の化合物はいずれも中間体が蓄積されることなしに、最終的にアルキ

ル鎖の炭素原子4のBA 4-Sでとまり、尿中に排せつされる。炭素数4からさきに酸化分解が起こらない理由は不明であるが、分子の立体構造、すなわち硫酸基の位置によるβ酸化系酵素の立体障害などが考えられている。しかしイヌやヒトの尿中にはさらにβ酸化された炭素数2のGA 2-Sが検出されており、高級アルコール硫酸エステル塩のラットとイヌ、ヒトにおける代謝には、吸収率のほか代謝物についても種差が認められる。

一方、Bruke ら⁸⁾は奇数個の炭素を有するC₁₁ASのラットでの代謝を調べ、尿中に主代謝物としてPA 3-Sの他少量のVA 5-Sを同定している。

要 約

³⁵S-オクタデシル硫酸ナトリウムをラットに経口投与した後、吸収、排せつ、体内分布ならびに尿中代謝産物の検討を行った。

1) 経口投与した³⁵S-C₁₈ASは24時間以内に投与した³⁵Sの約93%が尿中に、2%程度が糞中にそれぞれ排せつされた。一方、臓器内への³⁵Sの取り込みは少なく、特に親和性のある臓器は認められなかった。したがって、本化合物は吸収、排せつが速く、体内蓄積性の少ないものと思われる。

2) 投与した³⁵S-C₁₈ASは生体内で代謝されて最終的には大部分がBA 4-Sとして、また一部が加水分解され

た無機硫酸が少量尿中に排せつされた。

3) 尿中の主代謝物はDowex-1 カラムクロマトグラフィで分離した後、TLC, GLC, GC-MS 並びに逆同位体希釈分析などから、BA 4-Sと同定した。

終わりにオクタデシル硫酸ナトリウムを提供いただいた花王石鹼(株)に感謝するとともに、本研究に御協力いただいた青木啓子氏に感謝致します。

本報の概要は第32回日本食品衛生学会(昭和51年10月、岡山)において発表した。

文 献

- 1) Denner, W. H. B., Olavesen, A. H., Powell, G. M., Dodgson, K. S.: *Biochem. J.*, **111**, 43 (1969).
- 2) Merits, I.: *ibid.*, **148**, 219 (1975).
- 3) Bruke, B., Olavesen, A. H., Curtis, C. G., Powell, G. M.: *Xenobiotica*, **5**, 573 (1975).
- 4) Marvel, C. S., Birkhimer, E. R.: *J. Am. Chem. Soc.*, **51**, 260 (1929).
- 5) Chihara, G.: *Chem. Pharm. Bull., Tokyo*, **8**, 988 (1960).
- 6) Wigfield, D. C., Srinivasan, V.: *Int. J. Appl. Rad. Isotopes*, **25**, 473 (1974).
- 7) Ottery, J., Olavesen, A. H., Dodgson, K. S.: *Life Sci.*, **9**, 1335 (1970).
- 8) Bruke, B., Olavesen, A. H., Curtis, C. G., Powell, G. M.: *Xenobiotica*, **6**, 667 (1976).